

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 03 November 1999 (03.11.99)	
International application No. PCT/EP99/01014	Applicant's or agent's file reference P0951
International filing date (day/month/year) 10 February 1999 (10.02.99)	Priority date (day/month/year) 11 February 1998 (11.02.98)
Applicant KÖHLER, Johann, Michael et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

07 September 1999 (07.09.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer F. Baechler Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	--

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

PFEIFFER, Rolf-Gerd
 Patentanwaltsbüro Pfeiffer &
 Partner
 Winzerlaer Strasse 10
 D-07745 Jena
 ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 07 December 1999 (07.12.99)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P0951	
International application No. PCT/EP99/01014	International filing date (day/month/year) 10 February 1999 (10.02.99)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor	<input type="checkbox"/> the agent
<input type="checkbox"/> the common representative		
Name and Address INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V. Helmholtzweg 4 D-07743 Jena Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address
<input type="checkbox"/> the nationality		
<input type="checkbox"/> the residence		
Name and Address INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V. Winzerlaer Strasse 10 D-07745 Jena Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Aino Metcalfe
Facsimile No.: (41) 221 740 14 35	Telephone No.: (41) 221 336 83 38

the 1990s, the number of people in the UK who are aged 65 and over has increased from 10.5 million to 12.5 million, and the number of people aged 75 and over has increased from 4.5 million to 6.5 million (Office of National Statistics 1999). The number of people aged 65 and over is projected to increase to 15.5 million by 2020, and the number of people aged 75 and over to 8.5 million (Office of National Statistics 1999). The increase in the number of people aged 65 and over is expected to be due to a combination of factors, including a decline in the birth rate, a decline in the death rate, and a decline in the rate of emigration.

The increase in the number of people aged 65 and over is expected to have a significant impact on the UK's economy and society. The increase in the number of people aged 65 and over is expected to lead to a decline in the number of people in the workforce, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay taxes. This will lead to a decline in the amount of money that is available to fund public services, including the National Health Service (NHS). The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to support themselves, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay for their own care and support.

The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to work, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay taxes. This will lead to a decline in the amount of money that is available to fund public services, including the NHS. The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to support themselves, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay for their own care and support.

The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to work, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay taxes. This will lead to a decline in the amount of money that is available to fund public services, including the NHS. The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to support themselves, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay for their own care and support.

The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to work, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay taxes. This will lead to a decline in the amount of money that is available to fund public services, including the NHS. The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to support themselves, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay for their own care and support.

The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to work, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay taxes. This will lead to a decline in the amount of money that is available to fund public services, including the NHS. The increase in the number of people aged 65 and over is also expected to lead to a decline in the number of people who are able to support themselves, which will lead to a decline in the number of people who are able to pay for their own care and support.

I TENT COOPERATION TREA

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

PFEIFFER, Rolf-Gerd
Patentanwaltsbüro Pfeiffer &
Partner
Winzerlaer Strasse 10
D-07745 Jena
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 07 December 1999 (07.12.99)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P0951	
International application No. PCT/EP99/01014	International filing date (day/month/year) 10 February 1999 (10.02.99)

1. The following indications appeared on record concerning:			
<input type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor	<input checked="" type="checkbox"/> the agent	<input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address PFEIFFER, Rolf-Gerd Pfeiffer & Partner Helmholtzweg 4 D-07743 Jena Germany		State of Nationality	State of Residence
		Telephone No. +49/0-3641-302-909	
		Facsimile No. +49/0-3641-823-111	
		Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:			
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address	<input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence
Name and Address PFEIFFER, Rolf-Gerd Patentanwaltsbüro Pfeiffer & Partner Winzerlaer Strasse 10 D-07745 Jena Germany		State of Nationality	State of Residence
		Telephone No. 49 0 3641 206485	
		Facsimile No. 49 0 3641 823111	
		Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:			
4. A copy of this notification has been sent to:			
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned		
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned		
<input checked="" type="checkbox"/> the international Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Aino Metcalfe
Facsimile No. (41) 221 749 14 35	Telephone No. (41) 221 338 83 38

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : B01L 7/00, C12Q 1/68</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/41015</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 19. August 1999 (19.08.99)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/01014</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 10. Februar 1999 (10.02.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 05 350.9 11. Februar 1998 (11.02.98) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V. [DE/DE]; Helmholtzweg 4, D-07743 Jena (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KÖHLER, Johann, Michael [DE/DE]; Untergasse 8, D-07751 Golmsdorf (DE). MOKANSKY, Andreas [DE/DE]; Schufussstrasse 32, D-01277 Dresden (DE). POSER, Siegfried [DE/DE]; Schlippenstrasse 19, D-07749 Jena (DE). SCHULZ, Torsten [DE/DE]; Nollendorfer Strasse 11, D-07743 Jena (DE).</p> <p>(74) Anwalt: PFEIFFER, Rolf-Gerd; Pfeiffer & Partner, Helmholtzweg 4, D-07743 Jena (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen</i></p>

(54) Title: MINIATURIZED TEMPERATURE-ZONE FLOW REACTOR

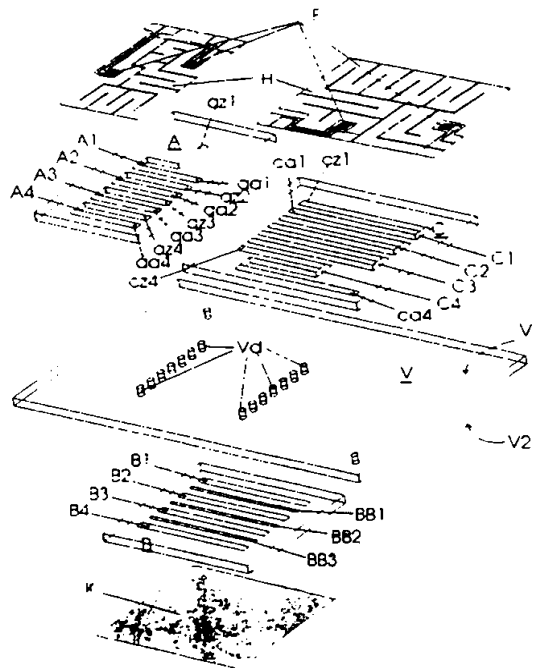
(54) Bezeichnung: MINIATURISIERTER TEMPERATURZONEN FLUSSREAKTOR

(57) Abstract

The invention relates to a miniaturized temperature-zone flow reactor, used for thermally controlled biochemical or molecular-biology processes, especially the PCR method. The invention aims to provide a temperature-zone flow reactor which allows for more effective reactions. To this end at least one closed flow path is provided which is divided into three partial paths (A1...An; B1...Bn and BB1...BBn-1; C1...Cn) in such a way that three substrate platelets (A; B; C) consisting of a material whose heat conductivity is as high as possible are provided, which have defined channel sections which are at a distance to each other and connected by a connecting chip (V) consisting of a poorly heat-conductive material. The substrate platelets (A; B; C) are maintained at different temperatures by suitable means.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktor, der bei thermisch zu kontrollierenden, biochemischen bzw. molekularbiologischen Prozessen, insbesondere beim Verfahren der PCR, Anwendung findet. Die Aufgabe der Erfindung, einen solchen Temperaturzonen Flußreaktor anzugeben, der eine effektivere Reaktion durchzuführen erlaubt, wird dadurch gelöst, daß wenigstens ein geschlossener Durchflußweg vorgesehen ist, der in drei Teilwege (A1...An; B1...Bn und BB1...BBn-1; C1...Cn) derart unterteilt ist, daß drei Substratplättchen (A; B; C), bestehend aus einem Material mit einer möglichst hohen Wärmeleitfähigkeit, vorgesehen sind, die definierte Grabenabschnitte beinhalten, welche voneinander beabstandet über ein Verbindungschip (V), bestehend aus einem schlecht wärmeleitfähigen Material, miteinander verbunden sind, wobei die Substratplättchen (A; B; C) durch geeignete Mittel auf unterschiedlichen Temperaturen gehalten werden.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor

Beschreibung

5 Die Erfindung betrifft einen miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktor, der bei thermisch zu kontrollierenden, biochemischen bzw. molekularbiologischen Prozessen, insbesondere beim Verfahren der sogenannten Polymerase-Ketten-Reaktion, im weiteren mit PCR bezeichnet, bei dem aus einem Gemisch von DNA-Sequenzen bestimmte
10 Sequenzen vervielfacht werden, Anwendung findet.

Bei der Durchführung von thermisch kontrollierten, biochemischen bzw. molekularbiologischen Prozessen sind häufig Prozeßschritte mit unterschiedlicher Temperaturbeaufschlagung erforderlich. Von besonderer
15 Bedeutung sind solche wechselnden Temperaturbeaufschlagungen bei der sogenannten PCR.

Das Verfahren der PCR ist in den letzten Jahren zur Vervielfachung bestimmter DNA-Sequenzen entwickelt worden und in seinen Grundsätzen von Darnell, J.; Lodish, H.; Baltimore, D. in "Molekulare Zellbiologie, Walter de Gruyter, Berlin-New York 1994, S. 256/257" ausgeführt. Unter anderem ist bei diesem Verfahren wesentlich, daß Gemische aus DNA-Sequenzen einer definierten Temperaturwechselbehandlung unterworfen werden. Dazu finden stationäre Probenbehandlungsapparaturen Verwendung, bei denen die entsprechenden
20 Proben in Probenkammern eingegeben und periodisch einem Warm-Kalt-Temperaturzyklus unterworfen werden, wobei sich je nach definiert vorgegebenen Primern die jeweils gewünschten DNA-Sequenzen vervielfachen. Die Effektivität bislang bekannter Probenkammern wird dabei als nicht ausreichend angesehen. Aus diesem Grund ist in jüngster Zeit eine
25 miniaturisierte Probenkammer vorgeschlagen worden (Northrup et al, DNA Amplification with Microfabricated reaction chamber, 7th International Conference on Solid State Sensors and Actuators, Proc. Transducers 1993, S. 924-26), die eine vierfach schnellere Vervielfachung gewünschter DNA-Sequenzen gegenüber bekannten Anordnungen ermöglicht. Diese bis zu 50 µl Probenflüssigkeit aufnehmende
30 Probenkammer besteht aus einer strukturierten Siliziumzelle mit einer

Längsausdehnung in der Größenordnung von 10 mm, welche in einer Probenangriffsrichtung von einer dünnen Membran abgeschlossen ist, über die die entsprechende Temperaturbeaufschlagung mittels miniaturisierter Heizelemente erfolgt. Auch bei dieser Vorrichtung wird die zu vervielfachende DNA-Sequenz über Mikrokanäle in die Kammer
5 eingebracht, einer Polymerase-Ketten-Reaktion unterworfen und anschließend wieder abgezogen. Trotz der mit dieser Vorrichtung erzielten Vorteile haftet ihr im wesentlichen der Nachteil an, daß auch diese Probenkammer als Ganzes beheizt und gekühlt werden muß, womit
10 sich nur begrenzte Temperaturwechselraten erreichen lassen. Insbesondere bei weiterer Reduzierung der Probengröße fällt dabei die parasitäre Wärmekapazität der Probenkammer und ggf. eines notwendigen Temperierblocks gegenüber der Probenflüssigkeit immer stärker ins Gewicht, so daß die prinzipiell bei kleinen Flüssigkeitsvolumina denkbaren hohen Temperaturwechselraten nicht erreicht werden
15 können, wodurch die Effektivität des Verfahrens relativ gering bleibt. Darüber hinaus ist zwecks Erreichung jeweils konstanter Temperaturregimes für die Probenflüssigkeit ein relativ aufwendiger Steuer- und Regelaufwand erforderlich, wobei die erbrachte Heiz- bzw. Kühlleistung im wesentlichen nicht in der Probenflüssigkeit, sondern in den sie umgebenden Baugruppen verbraucht wird.

Desweiteren ist aus US-PS 5,270,183 ein im Durchflußprinzip arbeitender Thermocycler bekannt geworden, bei dem die zu amplifizierende Probenflüssigkeit durch eine Rohrleitung geschickt wird,
25 welche nacheinander um mehrere, auf unterschiedlichen Temperaturen gehaltene Zylinder ein oder mehrfach aufgewickelt ist. Grundsätzlich sind mit einer solchen Ausbildung auch relativ kleine Probenmengen, bis herunter zu ca. 25 µl, amplifizierbar. Eine derartige Vorrichtung ist in ihrer Handhabung jedoch recht unpraktikabel und erfordert eine hohe
30 Kunstfertigkeit vom Gerätehersteller, so daß sie für eine Serienfertigung gänzlich ungeeignet ist.

Vorliegender Erfindung am nächsten kommt ein in WO 96/10456 beschriebener Fluß-Thermocycler, bei dem aus der sogenannten Mikrosystemtechnik bekannte Strukturierungstechnologien angewendet
35 werden, um eine Probenaufnahmekammer zu schaffen, die eine dynamische Probenbehandlung auch sehr kleiner Mengen, z.T. sehr

teurer Materialien, ermöglicht. Durch diesen Vorschlag wird erreicht, daß die in jeweils vorgesehenen Heiz- und Kühlzonen gerade einer Behandlung unterworfenen Probenteilvolumina einen homogenen Temperaturdurchsatz erfahren, was ebenfalls eine Ausbeuteerhöhung der zu amplifizierenden Substanz bewirkt. Weiterhin wird durch den anordnungsbedingten Wegfall von Heiz- und Kühlprozessen der Wandungsmaterialien und die drastische Minimierung parasitärer Wärmekapazitäten und Wärmeeinflüsse nicht nur ein erheblich geringerer Steuer- und Regelaufwand erforderlich, sondern der Gesamtprozeßdurchlauf erfährt auch eine wesentliche Zeitverkürzung. Dabei braucht jeweils nur soviel Heiz- und Kühlleistung eingespeist zu werden, wie im Probenflüssigkeitsstrom transportiert wird. Darüber hinaus ermöglicht die in WO 96/10456 Thermocyclerausbildung nicht nur eine kontinuierliche Prozeßführung, sondern auch einen seriellen Betrieb, indem unterschiedliche Substanzen nacheinander dem Thermocycler zuführbar sind, ohne daß es zu störenden Vermischungen mit der noch in der Anordnung befindlichen Probe kommen würde. Dieser Lösung haftet jedoch der Nachteil an, daß sie zum einen, einen äußerst präzisen Strukturierungsprozeß zur Herstellung dort vorgesehener Membranen erfordert, zum anderen kommt es durch den Aufbau der dort beschriebenen Vorrichtung zumindest bei Teildurchläufen zu einer unerwünscht hohen Verweildauer der Probenflüssigkeit in den Kühlzonenbereichen, was bei Durchführung einer PCR zur Bildung unerwünschter Nebenprodukte führen kann.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktor anzugeben, der thermisch kontrollierte, biochemische bzw. molekularbiologische Prozesse, insbesondere das Verfahren der Polymerase-Ketten-Reaktion, effektiver als nach dem Stand der Technik durchführen läßt.

Die Aufgabe wird durch die kennzeichnenden Merkmale des ersten Patentanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind durch die nachgeordneten Ansprüche erfaßt.

Durch die Erfindung wird ein zyklisches Erwärmen und Abkühlen von Lösungen auf unterschiedliche Temperaturstufen im kontinuierlichen

Fluß auf engstem Raum (im Mikrometer-Bereich) realisiert, um z.B. drei Reaktionen, z.B. Denaturierung, Annealing und Extension an DNS, in einer Probe, und insbesondere in mehreren unterschiedlichen Proben, die von einem Trägermedium in sequenzierten Abschnitten durch einen geschlossenen Durchflußweg transportiert werden, wiederholt und unter Beibehaltung der Reihenfolge und identischer Probenbehandlung durchführen zu können. Dabei können verschiedene Proben hintereinander injiziert werden, ohne miteinander zu vermischen, und anschließend geordnet in Probenkammern, mit Hilfe der vorgeschlagenen Vorrichtung auch parallel abgelegt werden.

Die Erfindung sieht vor, drei mit Gräben versehene mikrostrukturierte Chips, die aus einem gut wärmeleitfähigen Material bestehen, um einen schlecht wärmeleitfähigen Verbindungschip derart anzuordnen, daß wenigstens ein geschlossener Durchflußweg durch alle Chips gebildet wird. Jeder der Mikrochips wird mit einer vorgebbaren und voneinander unterschiedlichen Temperatur beaufschlagt. Die Zu- und Abflußmündungen der gut wärmeleitfähigen Chips sind von Durchlaßöffnungen des Verbindungschips derart erfaßt, daß die Probenflüssigkeit von A nach B nach C und wieder nach A nach B nach C gelangt, wobei der Prozeß n-mal wiederholbar ist, wobei n für die Anzahl der im Eingangs- (A) und Ausgangschip (C) vorgesehenen Grabenabschnitten steht. Die auf der jeweils gewünschten Temperatur gehaltenen Chips sind dabei alternierend um den Verbindungschip angeordnet, so daß die unterschiedlichen Temperaturzonen thermisch voneinander isoliert sind. Innerhalb eines jeden Chips gleicher Temperaturzone führt dessen höhere Wärmeleitfähigkeit zu einer homogenen Temperaturverteilung der ihn durchlaufenden Flüssigkeit. Weiterhin sind auf den Chips Heizer- und Fühlerstrukturen in Dünnschichttechnologie integriert. Eine externe Kühlung kann sich auf die kälteste Zone beschränken. Dazu ist bspw. ein Kühlblock, bspw. versehen mit in Dünnschichttechnik ausführbaren Peltierelementen, auf die Oberfläche des kältesten Chips (B) vorgesehen. Alternativ ist auch die Kühlung mit einem Luftstrom möglich.

Weiterhin ist der gekühlte Chip B mit Rückführungskanälen versehen, die bspw. im Querschnitt derart klein ausgeführt sind, daß die Verweildauer

der Probe während der Rückführung vom Chip C nach Chip A im Chip B minimiert ist. Dadurch reicht die Zeit nicht, um die Probe während der Rückführung in den Chip A auf die Temperatur des Chips B zu bringen; sie behält weitgehend die Temperatur des Chips C bei. Die Rückführungskanäle können zudem vom Chip B zusätzlich thermisch isoliert sein.

Die Verwendung eines optisch transparenten Materials, z.B. Pyrexglas, für den Verbindungschip erlaubt eine optische in situ Detektion von Reaktionspartnern in der Probe über eine Fluoreszenzdetektion eines zugegebenen Farbstoffs, was insbesondere für Analysezwecke sehr interessant ist.

In den erfindungsgemäßen miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktor werden die einzelnen Proben als Tropfen nacheinander in einen kontinuierlichen Trägerflüssigkeitsstrom injiziert, der durch den miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktor gepumpt wird. Für die Trägerflüssigkeit wurde eine solche ausgewählt, die sich nicht mit der Probenflüssigkeit vermischt; dadurch können unterschiedliche Proben nacheinander verarbeitet werden. Durch Aufhängen des vorgeschlagenen Temperaturzonen Flußreaktors an eine xy-Verschiebeeinheit kann die serielle Abgabe der Probenflüssigkeiten in eine parallele zweidimensionale Anordnung, z.B. eine Nanotiterplatte oder ein Elektrophoresegel, überführt werden. Dabei wird der Reaktor nach dem Befüllen einer Kammer mit einem Probentropfen zur nächsten Kammer weitergeschoben. Der Austritt eines Tropfens kann durch die Brechung eines Lichtstrahls an dem Probentropfen in der Trägerflüssigkeit mittels eines Fotometermoduls detektiert werden. Sind auf dem vorgeschlagenen Temperaturzonen Flußreaktor mehrere, voneinander getrennte Durchflußwege vorgesehen oder werden mehrere miniaturisierte Temperaturzonen Flußreaktoren nebeneinander in der vorstehend beschriebenen Weise betrieben, ist die genannte serielle Probenüberführung in eine parallele Anordnung in sehr effizienter Weise realisierbar.

Die Erfindung soll nachstehend anhand eines schematischen Ausführungsbeispiels näher erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 in Explosionsdarstellung eine Ausführungsmöglichkeit eines miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktors nach der Erfindung und

5 Fig. 2 ein Fotometersignal am Ausgang des miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktors, das verdeutlicht, daß es zu keiner Vermischung einzelner Probenbereiche während des Durchflusses kommt.

10 In Figur 1 ist in Explosionsdarstellung ein miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor dargestellt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit ist im Beispiel nur ein geschlossener Durchflußweg dargestellt, dessen Laufweg nachfolgend beschrieben wird. Zunächst ist ein erstes Substratplättchen A vorgesehen, das im Beispiel eine äußere
15 Bemaßung (Länge, Breite, Dicke) von $(8 \cdot 13 \cdot 0,5)$ mm aufweist und in das einseitig Gräben eingebracht sind, die eine Länge von 9 mm, eine Breite von 0,536 mm und eine Tiefe von 0,380 mm aufweisen sollen. Unter der hier bezeichneten Länge ist im Beispiel der gesamte Einzelkanalabschnitt zu verstehen, der bspw. zwischen einer
20 Zuflußmündung az2 und der zugehörigen Abflußmündung aa2 eingenommen wird, wodurch dieser Kanalabschnitt im Beispiel ein Volumen von $0,9 \mu\text{l}$ aufzunehmen vermag. Weiterhin ist ein drittes Substratplättchen C vorgesehen, das im Beispiel eine äußere Bemaßung (Länge, Breite, Dicke) von $(14 \cdot 13 \cdot 0,5)$ mm aufweist und in das
25 einseitig Gräben eingebracht sind, die eine Länge von 22 mm, eine Breite von 0,536 mm und eine Tiefe von 0,380 mm aufweisen sollen, so daß dieser Einzelkanalabschnitt ein Volumen von $2,26 \mu\text{l}$ aufzunehmen vermag. Bezüglich der hier unter Länge zu verstehenden Größe ist eine ebensolche zu verstehen, wie zum ersten Substratplättchen A ausgeführt.
30 Beide genannten Substratplättchen A, C bestehen aus einem gut wärmeleitfähigem Material, im Beispiel aus Silizium, und sind auf der den geöffneten Grabenseiten gegenüberliegenden Seite ganzflächig von mit regelbarer, variierbarer Temperatur beaufschlagbaren Heizmitteln H erfaßt. Im Beispiel sind diese Heizmittel H durch mäandriert ausgebildete
35 und direkt auf die Substratplättchen aufgebracht Dünnschichtheizelemente gebildet. Weiterhin sind auf diesen Substraten

Dünnschichttemperaturfühler F integriert angebracht, die zur Steuerung und Regelung der jeweils einzustellenden Temperatur Verwendung finden.

- Die Zu- und Abflußmündungen az1...aa4 des ersten Substratplättchens A und die Zu- und Abflußmündungen cz1...ca4 des dritten Substratplättchens C sind einseitig im wesentlichen in einer Linie nebeneinander auf einer Teilseite des jeweiligen Substratplättchens angeordnet und voneinander beabstandet mit der Fläche, die den Heizmitteln H gegenüberliegt, auf einer ersten Seite V1 eines schlecht wärmeleitfähigen und über ein mit Durchlaßöffnungen Vd versehenen Verbindungschip V, für den im Beispiel ein 1,1 mm dicker Pyrexglaschip eingesetzt ist, aufgebracht und mit diesem durch anodisches Bonden derart verbunden, daß genannte Zu- und Abflußmündungen und von den Durchlaßöffnungen Vd erfaßt sind.
- Die rückseitige Verbindung der Teilwege A1...An und der Teilwege C1...Cn erfolgt durch ein auf der zweiten Seite V2 des Verbindungschips V angebondetes zweites Substratplättchen B, für welches im Beispiel ebenfalls ein Siliziumchip mit den Maßen (12 · 10 · 0,5) mm verwendet ist, in den sich längs erstreckende Gräben einer Länge von 9 mm, einer Breite von 0,536 mm und einer Tiefe von 0,38 mm eingebracht sind. Diese n Kanäle, im Beispiel vier: B1...B4, übernehmen jeweils den strömenden Fluß von A nach C. Weiterhin sind zwischen diesen Kanälen B1...B4 jeweils zwischenliegend n-1 Kanäle, im Beispiel drei: BB1...BB3, vorgesehen, die den rückströmenden Fluß von C nach A übernehmen. Die rückführenden Kanäle sind dabei so ausgebildet, daß sie zunächst durch Gräben gebildet sind, daß sie eine Länge von 9 mm, eine Breite von 0,26 mm und einer Tiefe von 0,184 mm aufweisen und somit ein Volumen von 0,2 µl aufzunehmen vermögen, wohingegen die hinführenden Kanäle B1...B4 ein Volumen von 0,9 µl aufnehmen.
- Weiterhin ist es im Rahmen der Erfindung vorteilhaft, die rückführenden Kanäle BB1...BB3 des Substratplättchens B mit einer thermisch isolierenden Auskleidung gegenüber dem Wandungsmaterial des Substratplättchens B zu versehen. Dies kann im zusammengebauten Zustand des Temperaturzonen Flußreaktors durch Durchleitung und wandungsmäßiger Anlagerung eines Polymers vorgenommen werden. In jedem Fall soll den rückführenden Kanälen ein verringerter

Strömungsquerschnitt derart gegeben sein, daß die Durchflußgeschwindigkeit durch die rückführenden Gräben (BB1...BBn-1) gegenüber der durch die Gräben (B1...Bn) wenigstens um ein 3faches erhöht ist. Durch die im Beispiel beschriebene Aufteilung des

5 einen geschlossenen Durchflußwegs in drei Teilwege A1...A4, B1...B4, BB1...BB3 und C1...C4 und die entsprechend angepaßten Bemaßungen der Grabenabschnitte innerhalb der jeweiligen Substratplättchen erreicht man, bei einer anliegenden Durchflußgeschwindigkeit von 1 µl/min, Verweilzeiten der einzelnen Proben in den jeweiligen Kanalbereichen der

10 Substratplättchen A, B, C und damit entsprechend der dort vorgegebenen Temperaturen pro Durchgang durch den jeweiligen Teilabschnitt Einwirkzeiten wie folgt: Zone A = 55 s Zone B = 55 s im hinführenden Kanal und Zone B = 14 s im rückführenden Kanalzone C = 140 s. Da die Durchflußgeschwindigkeit in den rückführenden Kanälen BB1...BB3

15 wesentlich erhöht ist und die Kanäle, wie oben ausgeführt, vorzugsweise gegenüber dem Material des Substratplättchens B zusätzlich thermisch isoliert sind, sinkt die Probentemperatur beim Rücklauf nur unerheblich unter die, die sie im Bereich C angenommen hat. Ansonsten wird das Substratplättchen B einer externen Kühlung durch Kontaktierung an

20 einen Kühlblock K, oder durch in Dünnschichttechnik aufgebrachte Peltierelemente, auf der erforderlichen Temperatur gehalten. Alternativ ist auch die Kühlung in einem Luftstrom möglich.

Dadurch, daß der Verbindungschip (V) aus einem optisch transparenten Material, z.B. Pyrexglas, gebildet ist und gemäß der Anordnung der

25 Substratplättchen A, C zwischen diesen ein zugänglicher Freiraum verbleibt, ist die Möglichkeit einer optischen in situ Detektion von Reaktionspartnern in der Probe über eine Fluoreszenzdetektion eines zugegebenen Farbstoffs gegeben, was insbesondere für Analysezwecke äußerst vorteilhaft ist.

30 Für die Durchführung einer PCR sind im Beispiel die drei Temperaturzonen so ausgelegt, daß im Bereich des Substratplättchens A die Denaturierung einer doppelsträngige DNS durchgeführt werden kann, daß im Bereich des Substratplättchens B die Anlagerung von Primern an einzelsträngiger DNS ermöglicht ist (Annealing), und daß im Bereich des

35 Substratplättchens C mittels TAQ-Polymerase die Primer-Extension ermöglicht ist. Die im Ausführungsbeispiel gemessenen Temperaturen

5 betragen: Zone A: 95°C; Zone B: 55°C; Zone C: 72°C. Durch Anschluß eines externen Proportionalreglers kann die Temperatur in den Zonen auf 1°C konstant gehalten werden. Die Trägerflüssigkeit durchläuft in der beschriebenen Ausführung 4mal jede der genannten Zonen. Weiterhin sind der erste Zuflußweg, gebildet durch den Teilweg az1 bis aa1 im ersten Substratplättchen A und der letzte Abflußweg, gebildet durch den Teilweg cz4 bis ca4 im dritten Substratplättchen B gegenüber den sonstigen, auf den jeweiligen Substratplättchen vorgesehenen n Teilgräben verlängert ausgeführt, um den Prozessen am Ein- und 10 Ausgang des vorgeschlagenen Temperaturzonen Flußreaktors eine längere Reaktionszeit für die PCR einzuräumen.

Am Auslaß, hier ca4, ist mittels eines nicht dargestellten Fotometermoduls eine Segmentierung der Probenflüssigkeit und der Einsatz des miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktors, entweder 15 durch mehrfachen parallelen Einsatz des zu Fig. 1 beschriebenen Temperaturzonen Flußreaktors oder durch Vorsehen mehrerer geschlossener und gemäß der Erfindung in drei Zonen unterteilter Durchflußwege auf jeweils einer der Substratplättchen A, B, C zur Übergabe und parallelen Probenabgabe, wie oben beschrieben, 20 ermöglicht.

In Figur 2 ist beispielhaft das Signal eines solchen Fotometers am Ausgang des miniaturisierten Temperaturzonen Flußreaktors dargestellt, das verdeutlicht, daß es zu keiner Vermischung einzelner Probenbereiche während des Durchflusses kommt, wenn als Trägermedium für den 25 Probentransport eine mit dem Proben nichtmischbare Flüssigkeit, insbesondere ein Öl, eingesetzt ist. Zur Testung wurde dabei eine eingefärbte Probe verwendet.

Patentansprüche

1. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor, beinhaltend wenigstens einen mehrfach gewundenen Durchflußweg, der durch
5 mikrostrukturierte Ausnehmungen in einem ebenen Substrat gebildet ist, dadurch gekennzeichnet, daß jeder der einen geschlossenen Durchflußweg bildenden Durchflußwege in wenigstens drei Teilwege (A1...An; B1...Bn und BB1...BBn-1; C1...Cn) derart unterteilt ist, daß drei Substratplättchen (A; B; C), bestehend aus einem Material mit
10 einer möglichst hohen Wärmeleitfähigkeit, vorgesehen sind, wobei die Substratplättchen auf einer Flächenseite vollständig, zumindest über den in den Substratplättchen vorgesehenen Grabenbereichen, flächig von mit regelbarer, variierbarer Temperatur beaufschlagbaren Heizmitteln (H) erfaßt sind,
15 das erste Substratplättchen (A) mit Einlässen (az1), deren Anzahl der Anzahl der vorgesehenen Durchflußwege entspricht, versehen ist und das dritte Substratplättchen (C) mit Auslässen (ca4), deren Anzahl der Anzahl der vorgesehenen Durchflußwege entspricht, versehen ist und genannte Substratplättchen (A; C) jeweils mit n Grabenabschnitten
20 versehen sind, jeder der n Grabenabschnitte jeweils eine Zu- und Abflußmündung (az1...aa4; cz1...ca4) aufweist, welche einseitig im wesentlichen in einer Linie nebeneinander auf einer Teilseite des jeweiligen Substratplättchens angeordnet sind,
das erste Substratplättchen (A) und dritte Substratplättchen (C)
25 voneinander beabstandet mit der Fläche, die den Heizmitteln (H) gegenüberliegt, auf einer ersten Seite (V1) eines schlecht wärmeleitfähigen und über ein mit Durchlaßöffnungen (Vd) versehenen Verbindungschip (V) aufgebracht und mit diesem derart verbunden sind, daß genannte Zu- und Abflußmündungen (aa1...aa4; cz1...cz4) von den Durchlaßöffnungen (Vd) erfaßt sind und die
30 Durchlaßöffnungen auf der zweiten Seite des Verbindungschips (V2) über mikrostrukturierte Gräben, die die Teilwege (B1...Bn und BB1...BBn-1) des zweiten Substratplättchens (B) bilden, miteinander verbunden sind, wodurch jeweils ein geschlossener Durchflußweg mit
35 n Durchläufen durch die Substratplättchen (A; B; C) gebildet ist.

2. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß von den Teilwegen (B1...Bn und BB1...BBn-1) des zweiten Substratplättchens (B) jeweils den rückführenden Gräben (BB1...BBn-1) ein gegenüber den restlichen n Gräben (B1...Bn) verringerter Strömungsquerschnitt derart gegeben ist, daß die Durchflußgeschwindigkeit durch die rückführenden Gräben (BB1...BBn-1) gegenüber der Durchflußgeschwindigkeit durch die restlichen Gräben (B1...Bn) wenigsten um ein 3faches erhöht ist.
3. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die durch die rückführenden Gräben (BB1...BBn-1) gebildeten Kanäle mit einer thermisch gegen das Substratplättchen (B) isolierenden Auskleidung versehen sind.
4. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die thermisch isolierende Auskleidung durch ein Polymer gebildet ist.
5. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Verbindungschip (V) aus einem optisch transparenten Material gebildet ist.
6. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Zuflußweg (az1 bis aa1) im ersten Substratplättchen (A) und der letzte Abflußweg (cz4 bis ca4) im dritten Substratplättchen (B) gegenüber den sonstigen, auf den jeweiligen Substratplättchen vorgesehenen n Teilgräben verlängert ausgeführt sind.
7. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Trägermedium für den Proben transport eine mit dem Proben nichtmischbare Flüssigkeit, insbesondere ein Öl, eingesetzt ist.

- 5 8. Miniaturisierter Temperaturzonen Flußreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das zweite Substratplättchen (B) einseitig von einem flächigen Kühlmittel (K), zur Erzeugung einer gegenüber den durch die sonstigen Substratplättchen (A, B) abgesenkten Temperatur, erfaßt ist.

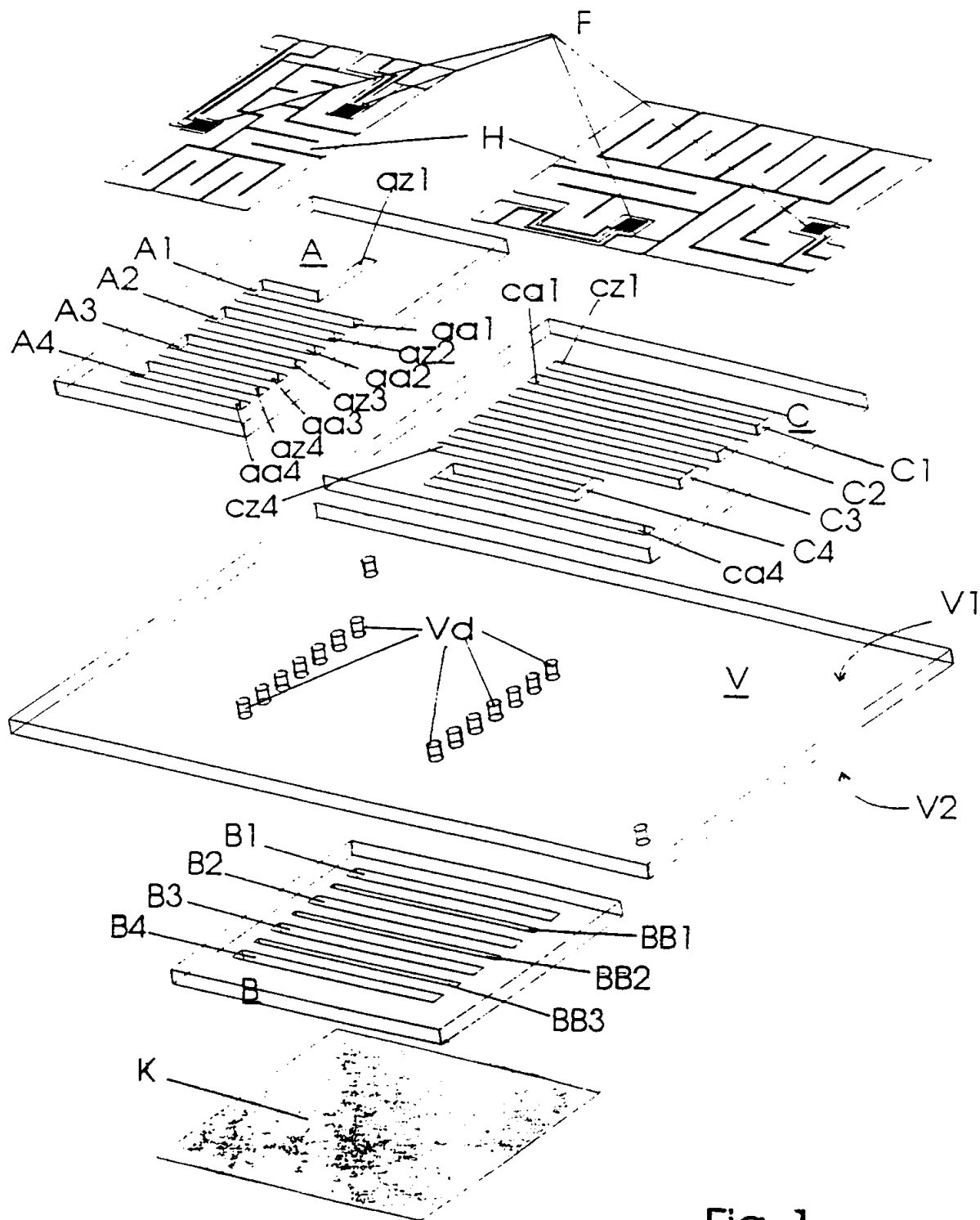


Fig. 1



2 / 2

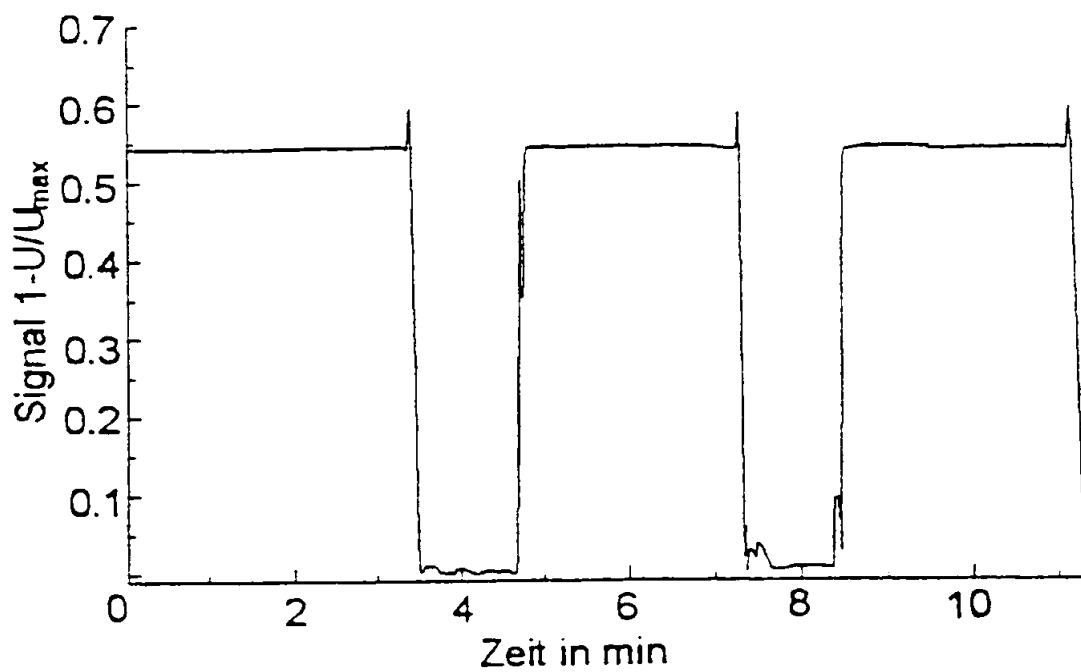


Fig. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte. onal Application No

PCT/EP 99/01014

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 B01L7/00 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 B01L B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
A	DE 44 35 107 C (BIOMETRA BIOMEDIZINISCHE ANALY ; INST PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOL (DE) 4 April 1996 cited in the application see column 3, line 62 - column 4, line 8	1
A	see column 2, line 43 - line 53 ---	7
A	WO 92 13967 A (BECKMAN RES INST CITY HOPE ; CORBETT JOHN MICHAEL (AU); REED KENNET) 20 August 1992 cited in the application	1
A	see page 16, line 27 - line 32 ---	7
A	WO 94 21372 A (DU PONT) 29 September 1994 see page 7, line 15 - page 8, line 10 see page 22, line 21 - line 35; figure 9 ---	1
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 July 1999

Date of mailing of the international search report

09/07/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P B 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hocquet, A

1. The first part of the document is a letter from the President of the United States to the Congress, dated January 1, 1861.

2. The second part is a report from the Secretary of the Treasury, dated January 1, 1861.

3. The third part is a report from the Secretary of the Interior, dated January 1, 1861.

4. The fourth part is a report from the Secretary of the Navy, dated January 1, 1861.

5. The fifth part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

6. The sixth part is a report from the Secretary of the State, dated January 1, 1861.

7. The seventh part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

8. The eighth part is a report from the Secretary of the Navy, dated January 1, 1861.

9. The ninth part is a report from the Secretary of the Interior, dated January 1, 1861.

10. The tenth part is a report from the Secretary of the Treasury, dated January 1, 1861.

11. The eleventh part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

12. The twelfth part is a report from the Secretary of the State, dated January 1, 1861.

13. The thirteenth part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

14. The fourteenth part is a report from the Secretary of the Navy, dated January 1, 1861.

15. The fifteenth part is a report from the Secretary of the Interior, dated January 1, 1861.

16. The sixteenth part is a report from the Secretary of the Treasury, dated January 1, 1861.

17. The seventeenth part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

18. The eighteenth part is a report from the Secretary of the State, dated January 1, 1861.

19. The nineteenth part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

20. The twentieth part is a report from the Secretary of the Navy, dated January 1, 1861.

21. The twenty-first part is a report from the Secretary of the Interior, dated January 1, 1861.

22. The twenty-second part is a report from the Secretary of the Treasury, dated January 1, 1861.

23. The twenty-third part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

24. The twenty-fourth part is a report from the Secretary of the State, dated January 1, 1861.

25. The twenty-fifth part is a report from the Secretary of the War, dated January 1, 1861.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal Application No

PCT/EP 99/01014

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
A	WO 97 14497 A (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 24 April 1997 see page 7, line 15 - line 18 see page 15, line 20 - line 26; figure 7C see page 16, line 11 - page 17, line 3 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/01014

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4435107 C	04-04-1996	WO 9610456 A EP 0731732 A US 5716842 A	11-04-1996 18-09-1996 10-02-1998
WO 9213967 A	20-08-1992	US 5270183 A AU 660652 B AU 1185092 A	14-12-1993 06-07-1995 07-09-1992
WO 9421372 A	29-09-1994	US 5534328 A AU 6409794 A BR 9405989 A DE 69413012 D DE 69413012 T EP 0688242 A JP 8508197 T US 5690763 A	09-07-1996 11-10-1994 26-12-1995 08-10-1998 25-03-1999 27-12-1995 03-09-1996 25-11-1997
WO 9714497 A	24-04-1997	US 5811062 A AU 1073497 A EP 0862493 A	22-09-1998 07-05-1997 09-09-1998

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P0951	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/ 01014	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 10/02/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 11/02/1998
Anmelder INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

☒ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



Feld III

WORTLAUT DER ZUSAMMENFASSUNG (Fortsetzung von Punkt 5 auf Blatt 1)

Zeile 15: nach "werden." ist "-Fig.1-" zu löschen.



A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 B01L7/00 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 B01L B01J

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 44 35 107 C (BIOMETRA BIOMEDIZINISCHE ANALY ; INST PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOL (DE) 4. April 1996 in der Anmeldung erwähnt siehe Spalte 3, Zeile 62 - Spalte 4, Zeile 8	1
A	siehe Spalte 2, Zeile 43 - Zeile 53 ---	7
A	WO 92 13967 A (BECKMAN RES INST CITY HOPE ; CORBETT JOHN MICHAEL (AU); REED KENNET) 20. August 1992 in der Anmeldung erwähnt	1
A	siehe Seite 16, Zeile 27 - Zeile 32 ---	7
	--- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. Juli 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

09/07/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hocquet, A



C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr
A	WO 94 21372 A (DU PONT) 29. September 1994 siehe Seite 7, Zeile 15 - Seite 8, Zeile 10 siehe Seite 22, Zeile 21 - Zeile 35; Abbildung 9 ---	1
A	WO 97 14497 A (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 24. April 1997 siehe Seite 7, Zeile 15 - Zeile 18 siehe Seite 15, Zeile 20 - Zeile 26; Abbildung 7C siehe Seite 16, Zeile 11 - Seite 17, Zeile 3 -----	1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/01014

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4435107	C	04-04-1996	WO 9610456 A	11-04-1996
			EP 0731732 A	18-09-1996
			US 5716842 A	10-02-1998
WO 9213967	A	20-08-1992	US 5270183 A	14-12-1993
			AU 660652 B	06-07-1995
			AU 1185092 A	07-09-1992
WO 9421372	A	29-09-1994	US 5534328 A	09-07-1996
			AU 6409794 A	11-10-1994
			BR 9405989 A	26-12-1995
			DE 69413012 D	08-10-1998
			DE 69413012 T	25-03-1999
			EP 0688242 A	27-12-1995
			JP 8508197 T	03-09-1996
			US 5690763 A	25-11-1997
WO 9714497	A	24-04-1997	US 5811062 A	22-09-1998
			AU 1073497 A	07-05-1997
			EP 0862493 A	09-09-1998



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 20 DEC 1999

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P0951	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/01014	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 10/02/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 11/02/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK B01L7/00		
Anmelder INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHN. E.V. et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 07/09/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 12. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Tragoustis, M Tel. Nr. +49 89 2399 8623 



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/01014

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-9 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-8 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

- 3 ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

- 4 Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-8
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-8
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-8
	Nein: Ansprüche	



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/01014

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt



Die Anmeldung betrifft einen miniaturisierten Temperaturzonen-Flußreaktor mit einem mehrfach gewundenen Durchflußweg, der durch mikrostrukturierte Ausnehmungen in einem ebenen Substrat gebildet ist.

Gemäß dem Anspruch 1 besteht der Durchflußweg aus drei Teilwegen. Der erste Teilweg hat die Form von Grabenabschnitten auf einer Flächenseite eines aus einem Material mit hoher Wärmeleitfähigkeit gebildeten Substratplättchens (A).

Ein anderer Teilweg hat wieder die Form von Grabenabschnitten auf einem ähnlichen Substratplättchen (C). Die beiden Substratplättchen sind voneinander beanstandet auf der gleichen Seite eines schlecht wärmeleitfähigen Verbindungschips (V) aufgebracht und. Unterhalb des Verbindungschips befindet sich ein anderes mit mikrostrukturierten Gräben ausgestattetes Substratplättchen (B). Durch Durchlaßöffnungen im Verbindungschip (V) entsteht ein geschlossener Durchflußweg von den Gräben des Plättchens (A) über die Gräben des Plättchens (B) zu den Gräben des Plättchens (C) und zurück.

Durch die beanspruchte Konstruktion des Flußreaktors lassen sich thermisch kontrollierte biochemische Prozessen (z.B. Polymerase-Ketten-Reaktion) effektiver durchführen.

Bei den im Recherchenbericht zitierten Dokumenten fehlt jeglicher Hinweis in Richtung dreier mit Gräben versehenen Substratplättchen, die auf einem Verbindungschip angeordnet sind.

Anspruch 1 und die abhängigen Ansprüche 2-8 definieren somit einen neuen und erfinderischen Gegenstand (Art. 33 PCT).

Im Anspruch 1 sollte der Tippfehler in Zeile 13 ("beaufschlagt") korrigiert werden.



1964
Translation
09600694

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

2

Applicant's or agent's file reference P0951	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/01014	International filing date (<i>day/month/year</i>) 10 February 1999 (10.02.99)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 11 February 1998 (11.02.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B01L 7/00		
Applicant INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 07 September 1999 (07.09.99)	Date of completion of this report 16 December 1999 (16.12.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/01014

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

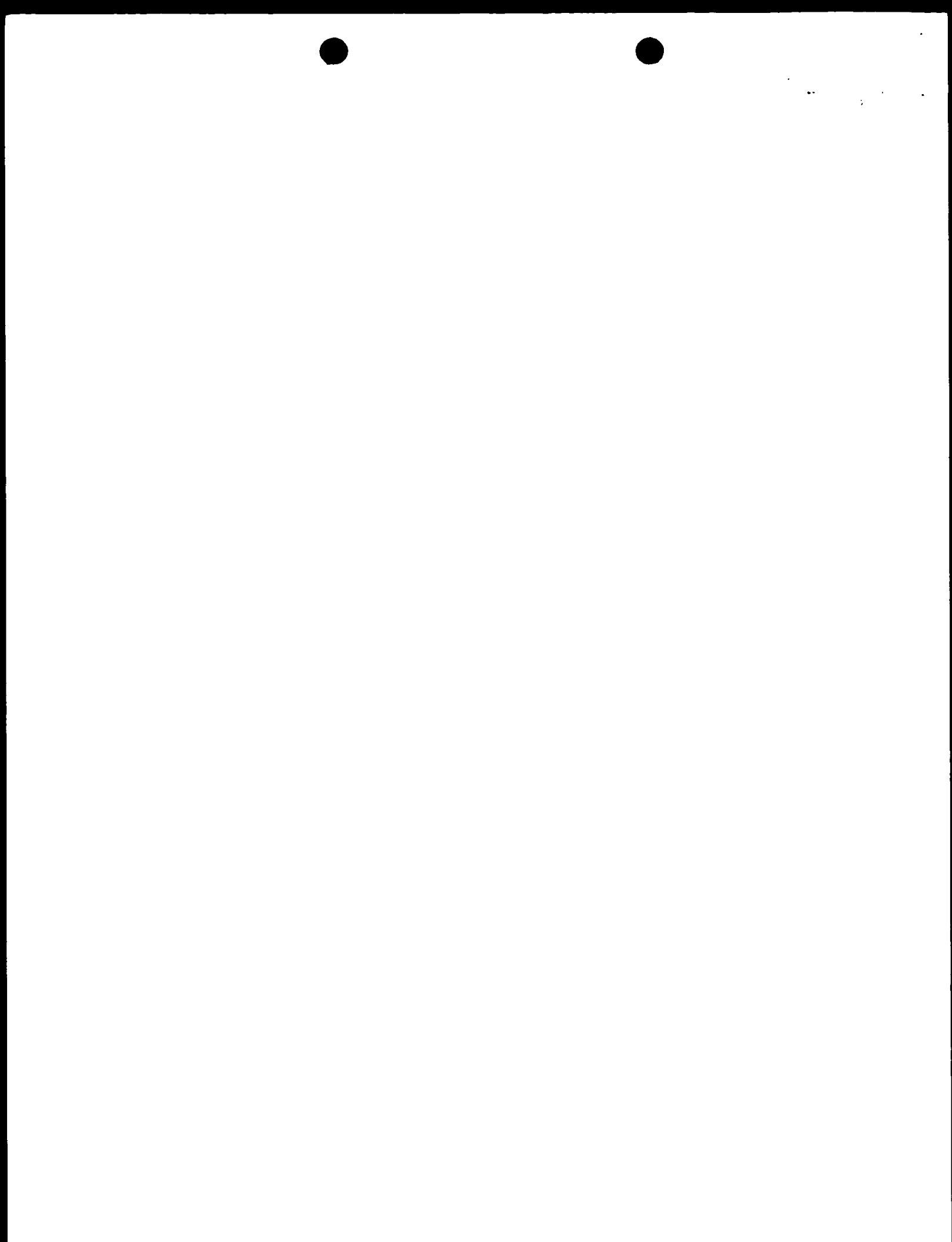
- ☐ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages 1-9, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the claims, Nos. 1-8, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the drawings, sheets/fig 1/2.2/2, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 99/01014

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

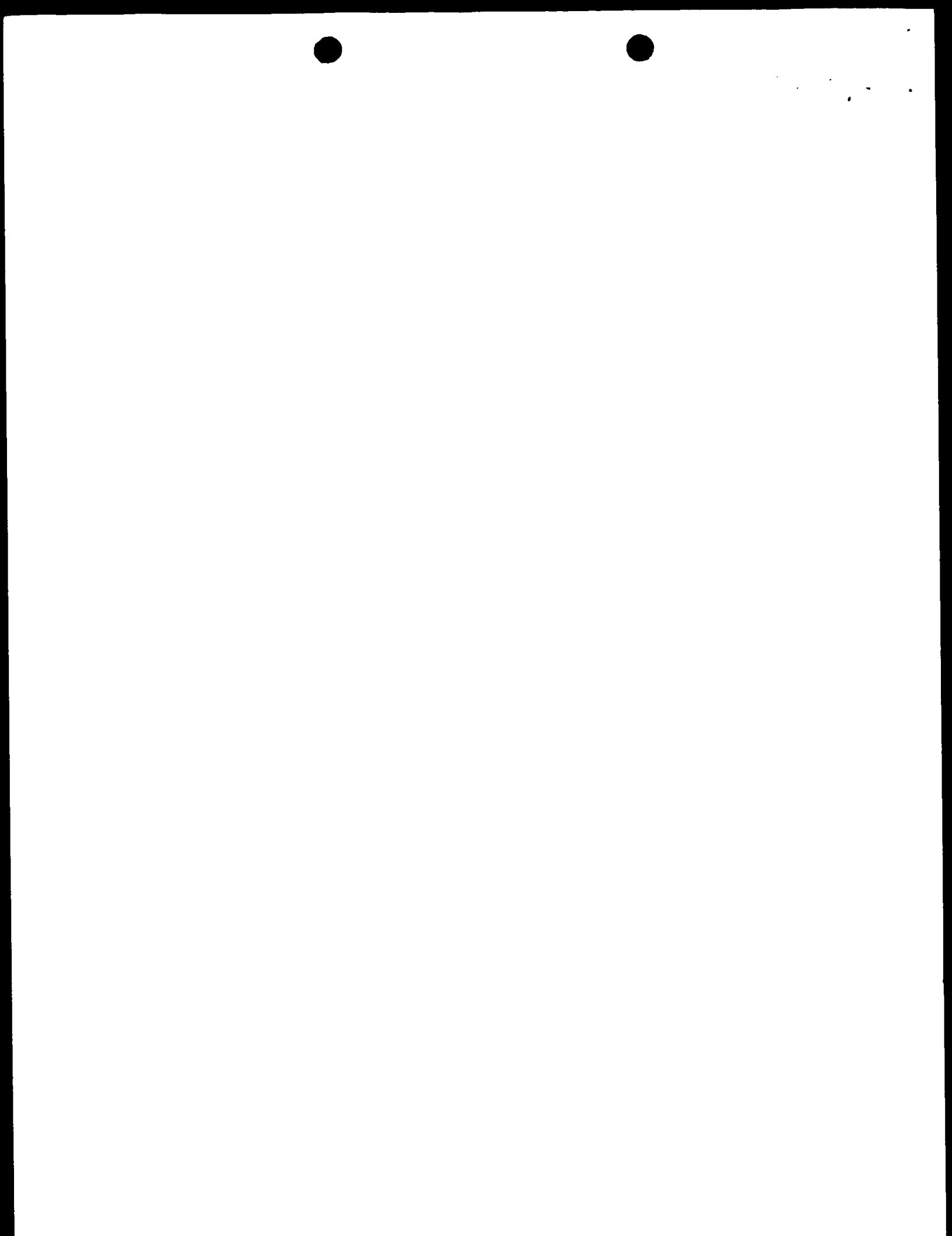
The application pertains to a miniaturized temperature-zone flow reactor with a sinuous flow path which is formed by microstructured recesses in a plane substrate.

According to Claim 1, the flow path consists of three partial paths. The first partial path takes the form of channel sections on a flat side of a substrate platelet (A) made of a material with high thermal conductivity.

Another partial path also takes the form of channel sections on a similar substrate platelet (C). The two substrate platelets are located at a distance apart on the same side of a connecting chip (V) with low thermal conductivity. Another substrate platelet (B) provided with microstructured channels is located below the connecting chip. A closed flow path extending from the channels of platelet (A) through the channels of platelet (B) to the channels of platelet (C) and back is formed by flow openings in the connecting chip (V).

Thermally controlled biochemical processes (e.g., polymerase chain reaction) can be carried out more effectively using a flow reactor of the claimed design. The documents cited in the search report contain no hint whatsoever of three substrate platelets provided with troughs which are arranged on a connecting chip.

.../...



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 99/01014

(Continuation of V.2)

Claim 1 and dependent Claims 2 - 8 define a novel and inventive subject matter (PCT Article 33).

(German text only) The typographical error in line 13 of Claim 1 ("beaufschlagt") should be corrected.

